

Titolo: “Uso della melatonina nei trattamenti antitumorali: a che punto siamo? - Use of Melatonin in Cancer Treatment: Where Are We?”

Codice: MLT013

Autore: Wang et al.

Data: 2022

Rivista: International Journal of Molecular Science 23, 3779

Argomento: Melatonina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23073779>

URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/7/3779>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2023/08/29/mlt013-wang-et-al-2022/>

Parole chiave: antitumorale; melatonina; meccanismi molecolari; specie reattive dell'ossigeno (ROS); terapia di combinazione

Tumore: n/a

Traduzione: l'articolo è stato tradotto in tutte le sue parti, ma con semplificazioni

### **Punti di interesse**

#### **Considerazioni generali**

Quest'articolo mi ricorda il detto “un colpo al cerchio e uno alla botte”. Perché l'articolo riconosce e presenta le proprietà antitumorali (o alcune di esse) di questa molecola e fa una revisione di studi che ne attestano indubbiamente le proprietà antitumorali. Quindi il colpo al cerchio a favore della melatonina nei trattamenti tumorali lo da sicuramente. Poi però arriva il colpo alla botte: la melatonina è una molecola instabile, a bassa biodisponibilità, non si sa come misurarla correttamente nel sangue o saliva o urine, i kit di misurazione per concentrazioni basse non ci sono (come, ancora non ci sono?), ha effetti collaterali (ma anche no) da determinare ancora per bene soprattutto a concentrazioni elevate (ma si accettano quelli di chemio e radio...), però se fatto come adiuvante a chemio e radio ne riduce gli effetti collaterali, da sola funzionicchia (e per forza, non si può trattare un cancro con un'unica molecola). Questi i colpi alla botte. Il tutto si capisce e riassume con la frase, che trovate al punto 6.4, “Sebbene la melatonina abbia un'elevata efficacia e una bassa tossicità nel trattamento del cancro (lo ammettono), pochissime aziende vogliono sviluppare questo ormone, di per sé, poiché è una molecola naturale e non brevettabile.” Questo è il problema.

Traducendo: la melatonina ci serve per trattare il cancro, funziona, ma signori non è brevettabile, non ci possiamo guadagnare sopra. E come si fa? Servono nuovi studi per approfondire le conoscenze dei meccanismi molecolari di cui poi si servirà la ricerca fatta per creare dei nuovi farmaci, ovvero molecole sintetiche brevettabili. Queste avranno effetti collaterali? Saranno poi minimi come quelli della molecola naturale?. Ma sono sicura questi effetti collaterali saranno ben accettati dalla comunità medico scientifica, come hanno accettato quelli di chemio e radio. Con le nuove molecole non naturali, ma brevettabili, si superano tutte le problematiche di mancata solubilità, stabilità etc etc. Volete mettere? E soprattutto si può guadagnare con brevetti. Quindi, da qui le conclusioni: la melatonina ha proprietà antitumorali accertate, ma sono necessari nuovi studi, nuove ricerche ed è necessario sviluppare nuovi veicoli biocompatibili per migliorare la biodisponibilità e la solubilità della melatonina. Volete un esempio? I nanofarmaci, del tipo:

nanoparticelle  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (ossido di ferro), come nanocarrier magnetico per la co-consegna di doxorubicina (DOX) con melatonina, vettori lipidici nanostrutturati (NLC) caricati con melatonina che potrebbero rilasciare melatonina in modo sostenibile e migliorare l'efficacia di altri trattamenti; nanoparticelle di chitosano-tripolifosfato caricate con melatonina. Oppure farmaci con melatonina incorporata in una matrice polimerica di policaprolattone di magnesio stampato in 3D, per trattare l'osteosarcoma ad esempio.

Del resto il buongiorno si vede sempre dal mattino. Infatti già nel riassunto fatto dagli autori mi era saltata subito all'occhio la frase: "Ciò ha attirato la nostra attenzione sul potenziale utilizzo della melatonina per il trattamento del cancro in ambito clinico, sebbene esistano ancora enormi ostacoli prima che la sua ampia somministrazione clinica venga accettata". Sebbene esistano ancora ENORMI ostacoli. Addirittura "enormi". Mamma mia. Oppure i signori della Scienza e della medicina non hanno ancora deciso quando e come guadagnare con questa molecola? Oppure hanno paura che funzioni troppo? E nel frattempo è bene screditare la forma naturale, nel mentre fanno lavorare le loro industrie, di cancro e farmaci.

Il problema di solubilità e stabilità e somministrazione è stato brillantemente risolto da un grande scienziato italiano che la melatonina la conosceva bene. Così come conosceva bene la chimica e la farmacologia. E usava le sue conoscenze per curare non per generare un profitto. Il prof. Luigi Di Bella con la sua melatonina coniugata questi problemi li aveva già risolti, sfruttando l'importanza del legame ad idrogeno della melatonina con l'adenosina. In merito a questo ricordo i seguenti video del Prof. di cui consiglio una lenta visione:

Parte 1: <https://www.youtube.com/watch?v=jki0TwjA19w>

Parte 2: <https://www.youtube.com/watch?v=8zin68LjiDk>

Parte 3: <https://www.youtube.com/watch?v=EmrTP2Dmr1k>

"Melatonina è una parola, ma bisogna vedere come agisce la melatonina e in che condizioni si trova" (Luigi Di Bella). Ci torneremo. Di seguito il riassunto fatto da me di questo articolo.

### **Punti di interesse**

La melatonina possiede un ampio spettro di effetti biologici, come la regolazione dei ritmi circadiani e il funzionamento come potente antiossidante. Inoltre, esiste un'associazione reciproca tra la melatonina e il sistema immunitario: il sistema immunitario stimola la sintesi della melatonina e, a sua volta, la melatonina ha proprietà immunoregolatrici ed effetti antinfiammatori.

Questi effetti biologici sono collegati a una serie di meccanismi molecolari come il legame ai recettori di membrana, l'interazione con le proteine citosoliche e nucleari e l'eliminazione diretta dei radicali. Sono state segnalate tre classi distinte di recettori della melatonina: (1) MT1 e MT2, due recettori di membrana; (2) recettori retinoidi orfani (ROR), membri della superfamiglia dei recettori degli steroidi, che si pensa siano i recettori nucleari della melatonina; e (3) il terzo sito di legame alla melatonina MT3. È stato riportato che i recettori della melatonina di membrana si trovano su quasi tutti i tipi di cellule tra cui retina, cervello, nucleo soprachiasmatico, ghiandola pituitaria, ovaio, arteria cerebrale e periferica, rene, pancreas, grasso e cellule immunitarie.

### **Azione antitumorale della melatonina**

L'effetto antitumorale della melatonina e le vie di segnalazione coinvolte sono state ampiamente studiate e riportate per le varie fasi di progressione tumorale (inizio, promozione e progressione). L'articolo presenta le ultime prove sull'effetto antitumorale della melatonina basate sulla letteratura pubblicata dal 2019 al 2021 nelle diverse fasi di sviluppo del tumore con enfasi sulla relazione tra

melatonina e cellule staminali del cancro cellule (CSC), microRNA (miRNA) e lunghi RNA non codificanti (lncRNA).

Riassumendo:

# Fase iniziale del tumore: la melatonina inibisce la tendenza sfavorevole delle cellule sane a diventare maligne regolando al minimo i fattori di crescita.

# Promozione tumorale: è noto che le cellule tumorali sotto regolano i geni oncosoppressori che innescerebbero la via dell'apoptosi, mentre la melatonina induce l'apoptosi attraverso diverse vie di regolazione. Le cellule tumorali sovra regolano gli oncogeni per stimolare fattori di crescita e segnali di sopravvivenza cellulare, fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) e/o proteina chinasi B (AKT). La melatonina sopprime la promozione del tumore sovregolando o sottoregolando anche queste strategie di crescita del tumore.

# Fase di progressione del tumore: la crescita e l'invasione delle cellule tumorali aumentano rapidamente. La melatonina inibisce crescita e migrazione sottoregolando le metalloproteinasi e il fattore di crescita dei fibroblasti per inibire l'invasione e la migrazione delle cellule tumorali. Inoltre la melatonina sopprime la migrazione e l'invasione delle cellule tumorali bloccando transizione epiteliale-mesenchimale (EMT). Studi recenti si sono concentrati sugli effetti antitumorali della melatonina sulle cellule staminali del cancro, dimostrando la sua capacità di sopprimere la staminalità del cancro.

La melatonina eserciterebbe i suoi ruoli antitumorali attraverso la regolazione di molecole di micro RNA (miRNA) e lunghi RNA non codificanti (lncRNA).

### **Modulazione del microambiente tumorale**

La melatonina mostra i suoi effetti antitumorali anche modulando il sistema immunitario nel micro ambiente tumorale e favorendo la risposta immunitaria (umorale e cellulare) contro le cellule tumorali.

### **Melatonina, metabolismo dei ROS e progressione tumorale**

La melatonina agisce come un potente antiossidante estinguendo i ROS, ma anche portando a citotossicità indotta aumentando i livelli di ROS in determinate cellule tumorali. Quest'ultima azione è operata sulle cellule tumorali ma non su cellule non trasformate (attività differenziale della melatonina).

### **Sperimentazione clinica**

Numerosi studi in vivo e in vitro sono stati condotti e hanno confermato gli effetti benefici della melatonina in vari tipi di cancro. Sono stati studiati gli effetti della melatonina negli studi clinici e nei pazienti. Quasi tutti gli studi clinici hanno utilizzato la melatonina in combinazione con la chemioterapia o come terapia protettiva e hanno dimostrato che l'applicazione della melatonina ha portato a impatti positivi sul trattamento antitumorale, tra cui l'attenuazione degli effetti collaterali correlati alla chemioterapia, la riduzione dell'incidenza dei sintomi depressivi e il miglioramento la qualità del sonno dei pazienti con cancro. È stato riportato che la melatonina sensibilizza le cellule tumorali alla chemioterapia promuovendo l'apoptosi e l'autofagia nelle cellule tumorali. Studi in vitro hanno dimostrato che l'uso della melatonina potrebbe potenziare l'effetto della radioterapia, mentre le indagini su soggetti umani sono scarse.

La melatonina ha il potenziale per stimolare il sistema immunitario; quindi, può avere un effetto sinergico con altre terapie contro il cancro come l'immunoterapia.

### **Problemi con l'uso della melatonina come farmaco antitumorale**

La melatonina ha una bassa solubilità in acqua e un'elevata permeabilità. Per utilizzare la melatonina per il trattamento del cancro, la forma del farmaco deve essere stabile con una ragionevole durata di conservazione in modo da garantire un rilascio affidabile del farmaco. Sono state tentate molte prove per cercare il solvente giusto per la melatonina e testarne la stabilità nel tempo. Poiché la melatonina ha una bassa solubilità in acqua e una scarsa stabilità chimica in un solvente organico, è necessario sviluppare nuovi veicoli biocompatibili per migliorare la biodisponibilità e la solubilità della melatonina. Il concetto di sviluppo di nanoparticelle per la somministrazione di melatonina è ancora nelle sue fasi iniziali, con studi focalizzati sulla somministrazione in vitro in diverse condizioni umane. Sono state testate varie nanoparticelle, come le una nanoparticella  $Fe_3O_4$ , come nanocarrier magnetico per la co-consegna di doxorubicina (DOX) con melatonina. I vettori lipidici nanostrutturati (NLC) caricati con melatonina potrebbero rilasciare melatonina in modo sostenibile e migliorare l'efficacia di altri trattamenti. In altri studi è stato dimostrato che le nanoparticelle di chitosano-tripolifosfato caricate con melatonina attenuano la genotossicità indotta da altre sostanze. La melatonina è stata anche caricata in policaprolattone di magnesio stampato in 3D per trattare l'osteosarcoma.

La misurazione del livello di melatonina è spesso richiesta negli studi sulla melatonina. Ma la misurazione presenta delle criticità per diversi aspetti: deve essere definito quale campione raccogliere, tempo di raccolta del campione e selezione dei kit di analisi. Questi aspetti, importanti da pianificare nel disegno di uno studio scientifico, possono comportare enormi variazioni tra i risultati dei diversi studi, comportare dati imprecisi e portare a conclusioni errate. Ciò può fornire una spiegazione ai risultati a volte contrastanti in letteratura, e ostacolare la determinazione del livello terapeutico di melatonina nel trattamento del cancro.

La melatonina è ben riconosciuta come un farmaco privo di tossicità significativa sia a concentrazioni fisiologiche che farmacologiche. Tuttavia, non possiamo trarre questa conclusione senza chiarire la dose e la durata del trattamento con melatonina. I ricercatori devono ancora determinare il dosaggio ottimale di melatonina per la terapia adiuvante del cancro o la prevenzione del cancro. In letteratura, la maggior parte degli studi ha riportato una bassa incidenza di eventi avversi ma la melatonina è stata somministrata a basso dosaggio e per breve durata. In considerazione dello stato patologico e del possibile trattamento concomitante nei pazienti oncologici, sono necessarie ulteriori indagini per verificare il profilo di sicurezza e il dosaggio della melatonina nel trattamento del cancro.

Nella sezione 6.4 dal titolo “Come singolo farmaco antitumorale o farmaco antitumorale adiuvante? Gli autori dell’articolo esplicitamente affermano che “Sebbene la melatonina abbia un'elevata efficacia e una bassa tossicità nel trattamento del cancro, pochissime aziende vogliono sviluppare questo ormone, di per sé, poiché è una molecola naturale e non brevettabile.”

E nella successiva sezione, quella delle conclusioni dopo il riassunto dei problemi principali nell'utilizzo della melatonina, relativi alla bassa biocompatibilità della melatonina (come può una sostanza naturale essere definita a bassa biocompatibilità?), le problematiche di misurazione e le incertezze in merito a dosaggi, effetti collaterali e approccio di somministrazione, affermano che per facilitare l'applicazione clinica della melatonina, è necessario

- # sviluppare nuove forme di farmaci
- # sviluppare nuovi sistemi di trasporto di farmaci per migliorare la biodisponibilità della melatonina
- # fare nuovi studi per comprendere i meccanismi molecolari
- # fare studi clinici

Insomma , l'industria del cancro deve andare avanti. E lo fa su due fronti: 1) la ricerca scientifica per chiarire i meccanismi molecolare 2) la ricerca per produrre sostanze di sintesi brevettabili

## TRADUZIONE SEMPLIFICATA DELL'ARTICOLO

### Riassunto

Il cancro rappresenta un ampio gruppo di malattie che rappresentano quasi 10 milioni di morti ogni anno. Varie strategie di trattamento, inclusa la resezione chirurgica combinata con chemioterapia, radioterapia e immunoterapia, sono state applicate per il trattamento del cancro. Tuttavia, i risultati rimangono in gran parte insoddisfacenti. La melatonina, in quanto ormone endogeno, è associata alla moderazione del ritmo circadiano. Sono state identificate molte funzioni fisiologiche della melatonina oltre al controllo del ciclo sonno-veglia, come antiossidante, immunomodulazione e anti-infiammatoria. Negli ultimi anni, un numero crescente di studi ha descritto gli effetti antitumorali della melatonina. Ciò ha attirato la nostra attenzione sul potenziale utilizzo della melatonina per il trattamento del cancro in ambito clinico, sebbene esistano ancora enormi ostacoli prima che la sua ampia somministrazione clinica venga accettata. Gli esatti meccanismi alla base dei suoi effetti antitumorali rimangono poco chiari e i caratteri specifici ne impediscono l'indagine in vivo. In questa recensione, riassumeremo gli ultimi progressi negli studi sulla melatonina, comprese le sue proprietà chimiche, i possibili meccanismi per i suoi effetti antitumorali e gli studi clinici in corso. È importante sottolineare che verranno discusse le sfide per l'applicazione clinica della melatonina, accompagnate dalle nostre prospettive sul suo sviluppo futuro. Infine, verranno proposti gli ostacoli e le prospettive dell'utilizzo della melatonina per il trattamento del cancro. Il presente articolo fornirà una base completa per l'applicazione della melatonina come agente preventivo e terapeutico per il trattamento del cancro.

### Introduzione

Il cancro è la principale causa di morte in tutto il mondo e la sua incidenza e mortalità sono in rapida crescita in tutto il mondo. È stato riferito che nel 2020 ci sono stati 19,3 milioni di nuovi casi di cancro e quasi 10 milioni di morti per cancro [1]. Pertanto, lo sviluppo di nuovi metodi di prevenzione e trattamento è una priorità assoluta per ridurre l'onere futuro e salvare coloro che soffrono di cancro. Attualmente, il metodo più comunemente applicato è la terapia combinata, come la chirurgia combinata con la chemioterapia e/o la radioterapia. Tuttavia, il basso tasso di sopravvivenza a 5 anni e la prognosi sfavorevole sono tutt'altro che soddisfacenti.

Il Premio Nobel per la Fisiologia o la Medicina 2017 è stato assegnato al team che ha identificato il ruolo essenziale del ritmo circadiano per la salute della vita, ispirandoci a sviluppare farmaci antitumorali basati sul nostro "orologio interno". La melatonina, un ormone endogeno che controlla il ciclo sonno-veglia, è arrivata all'attenzione degli scienziati per i suoi effetti antitumorali. La melatonina esercita una varietà di funzioni biologiche e numerosi studi hanno identificato i suoi effetti antitumorali così come i meccanismi sottostanti. Tuttavia, il modello di biosintesi distinto e la modalità di modulazione specifica ne impediscono l'indagine in vivo e l'applicazione clinica.

In questa recensione, presentiamo in modo completo la sintesi, il metabolismo e le funzioni fisiologiche e patologiche della melatonina. Inoltre, abbiamo esplorato gli effetti antitumorali della melatonina da tre aspetti: i meccanismi molecolari, gli effetti di modulazione sulle cellule immunitarie e il metabolismo dei ROS. Sono stati esaminati gli studi clinici sugli effetti antitumorali della melatonina e sono stati anche chiariti gli effetti sinergici della melatonina con il trattamento antitumorale convenzionale tra cui chemioterapia, radioterapia e immunoterapia. Inoltre, abbiamo discusso i problemi che stiamo affrontando quando si utilizza la melatonina come

farmaco antitumorale da quattro aspetti. Si spera che questa recensione ci ispiri a stabilire approcci standard di indagine e applicazione della melatonina per il trattamento del cancro.

## 2. Biologia di base della melatonina

### 2.1. Biosintesi e secrezione di melatonina

La melatonina (N-acetil-5-metossi-triptamina) fu scoperta per la prima volta nella ghiandola pineale bovina da Lerner nel 1958 [2]. In seguito è stato segnalato che esisteva nelle piante, nei cladi di invertebrati e negli organismi unicellulari inclusi i batteri [3,4,5]. La melatonina è principalmente secreta dalla ghiandola pineale situata nel terzo ventricolo del cervello ed è sintetizzata nei linfociti, nel midollo osseo, negli occhi e nel tratto gastrointestinale [6]. La biosintesi della melatonina avviene nei mitocondri [7]. Le cellule prima ottengono l'amminoacido triptofano dalla circolazione e lo convertono in serotonina, che viene poi metabolizzata in N-acetil-5-idrossitriptamina dall'N-acetiltransferasi (AANAT), seguita dalla trasformazione in melatonina dall'idrossiindolo-o-metiltransferasi [8]. La ritmicità della sintesi della melatonina pineale è regolata dal "maestro orologio biologico", che si trova nel nucleo ipotalamico soprachiasmatico (SCN) di tutti i mammiferi [9]. Le informazioni sulla luce vengono ricevute dalle cellule dei fotorecettori retinici e trasferite al SCN tramite il nervo ottico. Il SCN invia queste informazioni al ganglio cervicale superiore (SCG) attraverso i neuroni efferenti, che, a loro volta, proiettano i nervi simpatici alla ghiandola pineale. La mancanza di luce notturna stimola il rilascio di noradrenalina dai neuroni simpatici che proiettano alla ghiandola pineale, che si traduce nell'attivazione di AANAT e successivamente aumenta il livello di melatonina prodotta dalla ghiandola pineale. La melatonina prodotta dalla ghiandola pineale viene rilasciata nel liquido cerebrospinale (CSF) e nei vasi sanguigni.

Il livello di melatonina nel liquido cerebrospinale (CSF) e nel sangue raggiunge il massimo intorno alle 2:00 alle 4:00 e diminuisce durante il giorno. La concentrazione sierica di melatonina varia tra 80 e 120 pg/ml durante la notte e scende bruscamente a 10-20 pg/ml durante le ore diurne [10]. La melatonina esogena è stata studiata in numerosi studi clinici per il suo potenziale utilizzo nel trattamento dei disturbi circadiani e del sonno ed è stata ampiamente utilizzata clinicamente [11]. Se assunta per via orale, la melatonina potrebbe essere degradata rapidamente nel fegato dagli enzimi del citocromo P450 CYP1A1 e dagli enzimi 1A2 [12], il che spiega la sua scarsa e variabile biodisponibilità. Per bypassare questo metabolismo di primo passaggio, sono state esplorate vie di somministrazione alternative [13].

La piena comprensione della biosintesi e della secrezione della melatonina è essenziale per la sua indagine in vivo e l'applicazione clinica. Stabilire un tempo, un dosaggio e un metodo di somministrazione standard potrebbe massimizzare gli effetti della melatonina esogena nella pratica clinica. A causa della sua enorme variazione di concentrazione e solubilità specifica, rimane una sfida applicare questo particolare ormone nel trattamento del cancro. Questo sarà discusso nella Sezione 6.

### 2.2. Effetti biologici e meccanismi molecolari della melatonina

La melatonina possiede un ampio spettro di effetti biologici, come la regolazione dei ritmi circadiani e il funzionamento come potente antiossidante. Inoltre, esiste un'associazione reciproca tra la melatonina e il sistema immunitario: il sistema immunitario stimola la sintesi della melatonina e, a sua volta, la melatonina ha proprietà immunoregolatrici [14]. Inoltre, la melatonina esercita anche effetti antinfiammatori riducendo i livelli del fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- $\alpha$ ), dell'interleuchina-2 (IL-2) e dell'interferone-gamma (IFN- $\gamma$ ) e aumentando la quantità di interleuchina-4 (IL-4), interleuchina-10 (IL-10) e interleuchina-27 (IL-27) [15]. Un numero crescente di studi ha identificato gli effetti regolatori della melatonina sulla gestione del tumore in diversi stadi del cancro, tra cui l'inizio, la progressione e la metastasi del cancro [16].

Questi effetti biologici sono collegati a una serie di meccanismi molecolari come il legame ai recettori di membrana, l'interazione con le proteine citosoliche e nucleari e l'eliminazione diretta dei radicali. Sono state segnalate tre classi distinte di presunti recettori della melatonina: (1) MTNR1A (MT1) e MTNR1B (MT2), due recettori di membrana della melatonina appartenenti alla superfamiglia dei recettori accoppiati a proteine G [17]; (2) recettori retinoidi orfani (ROR), membri della superfamiglia dei recettori degli steroidi, che si pensa siano i recettori nucleari della melatonina [18], sebbene questo concetto rimanga controverso [19]; e (3) il terzo sito di legame alla melatonina MT3, identificato come chinone reduttasi 2 [20, 21, 22]. È stato riportato che i recettori della melatonina di membrana si trovano su quasi tutti i tipi di cellule tra cui retina, cervello, nucleo soprachiasmatico, ghiandola pituitaria, ovaio, arteria cerebrale e periferica, rene, pancreas, grasso e cellule immunitarie [23,24]. Tutti loro sono disponibili per la melatonina per legare ed esercitare le funzioni pleiotropiche.

In sintesi, la melatonina mostra vari effetti biologici attraverso meccanismi distinti. Una piena comprensione di questi meccanismi potrebbe facilitare l'applicazione precisa della melatonina per diverse malattie e condizioni. La modifica strutturale della melatonina basata sui suoi recettori può ridurre in una certa misura gli effetti collaterali indesiderati. Ulteriori indagini sono altamente giustificate per raggiungere questi obiettivi.

### 3. Effetto antitumorale della melatonina

#### 3.1. Meccanismi sottostanti/percorsi di segnalazione

L'effetto antitumorale della melatonina e le vie di segnalazione coinvolte sono state ampiamente riportate sull'inizio, la promozione e la progressione del tumore. In questa sezione, riassumeremo le ultime prove sull'effetto antitumorale della melatonina basate sulla letteratura pubblicata dal 2019 al 2021 e discuteremo i risultati basati sulle diverse fasi di sviluppo del tumore (Figura 1), con enfasi sulla relazione tra melatonina e cellule staminali del cancro cellule (CSC), microRNA (miRNA) e lunghi RNA non codificanti (lncRNA).

Inizialmente, gli studi hanno scoperto che la melatonina ha inibito la tendenza sfavorevole delle cellule sane a diventare maligne regolando al minimo i fattori di crescita tra cui il fattore di crescita insulino-simile-1 della prolattina (IGF-1), il fattore di crescita epidermico (EGFR), il fattore di crescita degli epatociti (HGF), il fattore di crescita trasformante (TGF), fattori di crescita dipendenti dall'ormone della crescita (GHF) e fattori di crescita derivati dalle piastrine (PDGF) [25]. In un modello di xenotrapianto di carcinoma a cellule renali, è stato dimostrato che la melatonina ha contribuito a prevenire l'inizio del tumore, il che coincide con l'osservazione clinica che le persone che lavorano di notte o hanno bassi livelli di melatonina hanno un rischio maggiore di contrarre il cancro [26, 27].

Nella fase di promozione del tumore, è noto che le cellule tumorali sotto regolano i geni oncosoppressori che innescherebbero la via dell'apoptosi, mentre questo processo potrebbe essere salvato dalla melatonina. La melatonina induce l'apoptosi attraverso diverse vie di regolazione [28, 29, 30].

Inoltre, è noto che le cellule tumorali sovra regolano gli oncogeni per stimolare fattori di crescita e segnali di sopravvivenza cellulare, fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) o proteina chinasi B (AKT). La melatonina sopprime la promozione del tumore sovraregolando o sottoregolando anche queste strategie di crescita del tumore [31, 32, 33].

Nella fase di progressione del tumore, la crescita e l'invasione delle cellule tumorali aumentano rapidamente. La melatonina potrebbe inibire la crescita delle cellule tumorali e sottoregolare la metalloproteinasi 9 della matrice (MMP-9) e il fattore di crescita dei fibroblasti 19 (FGF19) per inibire l'invasione e la migrazione delle cellule tumorali [34-39].

La transizione epiteliale-mesenchimale (EMT) è un processo importante che si verifica nell'inizio delle metastasi del cancro. In questo processo, le cellule epiteliali perdono la loro polarità cellulare e l'adesione cellula-cellula, acquisiscono proprietà migratorie e invasive per diventare cellule staminali mesenchimali e di conseguenza differenziarsi in una varietà di tipi cellulari. È stato riportato che la melatonina sopprime la migrazione e l'invasione delle cellule tumorali bloccando l'EMT [40, 41, 42].

Le CSC sono cellule tumorali che possono dare origine a tutti i tipi di cellule presenti in un particolare campione di cancro. Possono causare recidive e metastasi. Pertanto, è importante sviluppare nuove terapie mirate alle CSC per migliorare il tasso di sopravvivenza e la qualità della vita dei malati di cancro. Studi recenti si sono concentrati sugli effetti antitumorali della melatonina sulle CSC, dimostrando la sua capacità di sopprimere la staminalità del cancro [44, 45, 46].

Il miRNA è una piccola molecola di RNA a filamento singolo, non codificante, che funziona nel silenziamento dell'RNA e nella regolazione post-trascrizionale. Il miRNA è associato alla progressione, alla diagnosi e al trattamento del cancro. Il ruolo della melatonina nel miRNA correlato al cancro è stato ampiamente studiato negli ultimi 3 anni. In diversi tipi di tumore è stato dimostrato l'effetto antitumorale della melatonina attraverso la regolazione di queste molecole di RNA [47, 48, 49, 50].

LncRNA è un tipo di RNA con più di 200 nucleotidi senza traduzione proteica. Il cancro è una malattia associata a numerose mutazioni genetiche e traslocazioni cromosomiche. LncRNA svolge ruoli chiave nella regolazione dell'espressione genica e della dinamica della cromatina; le loro caratterizzazioni dettagliate nel cancro sono state annotate [51]. Tuttavia, è stato solo negli ultimi anni che le interazioni tra melatonina e lncRNA durante il trattamento del cancro hanno iniziato ad attirare l'attenzione dei ricercatori. La melatonina eserciterebbe il suo ruolo antitumorale anche attraverso la regolazione di lncRNA [52, 53, 54].

Nel complesso, la melatonina esercita le sue funzioni antitumorali durante l'inizio, la promozione e la progressione del tumore prendendo di mira varie vie di segnalazione. Gli effetti di regolazione sempre più segnalati della melatonina su CSC, miRNA e lncRNA durante il trattamento del cancro ci forniscono nuove intuizioni per la gestione del cancro. Tuttavia, la melatonina come ormone endogeno potrebbe regolare quasi tutti i tipi di cellule. Anche altri sistemi come il sistema immunitario possono svolgere un ruolo importante nella soppressione del cancro regolata dalla melatonina.

### 3.2. Modulazione delle risposte immunitarie da parte della melatonina

Il microambiente tumorale (TME) è infiltrato da varie cellule immunitarie. Il sistema immunitario all'interno della TME ha ruoli fondamentali sia nell'inibizione che nella progressione delle cellule tumorali. Le cellule natural killer (NK) e i linfociti T citotossici (CTL) sono le principali cellule immunitarie oncostatiche, mentre le cellule T regolatorie (Tregs) e i fibroblasti associati al cancro (CAF) facilitano la fuga immunitaria delle cellule tumorali. Inoltre, i macrofagi associati al tumore (TAM) rilasciano citochine che attenuano l'attività del sistema immunitario contro le cellule tumorali o stimolano l'angiogenesi [55].

La melatonina mostra i suoi effetti antitumorali modulando il sistema immunitario e spostando la risposta immunitaria verso le cellule tumorali nella TME [56]. Ad esempio, le cellule T esprimono recettori di membrana e siti di legame nucleare della melatonina, che potrebbero modulare l'attivazione e la differenziazione delle cellule T. La melatonina stimola la proliferazione di CTL aumentando il livello di espressione di citochine infiammatorie come IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 [57]. È



stato anche dimostrato che la melatonina aumenta il numero e l'attività delle cellule T citotossiche CD8+ [58].

Diversi studi hanno descritto l'effetto della melatonina sulle Treg [59, 60]. La melatonina potrebbe anche aumentare l'attività di infiltrazione delle cellule NK [61, 62, 63].

I macrofagi hanno anche recettori di membrana per la melatonina e poiché il macrofago di tipo M1 mostra un effetto antitumorale, la melatonina potrebbe facilitare la gestione del cancro modulando la risposta del macrofago M1 [64, 65, 66].

È stato esplorato l'effetto diretto della melatonina su i fibroblasti associati al cancro (CAF). Ad esempio, la melatonina riduce indirettamente la proliferazione e l'invasione delle cellule del cancro gastrico inibendo la produzione di metalloproteinasi 2 e 9 nei fibroblasti associati al cancro [67]. Il fattore di crescita trasformante beta (TGF- $\beta$ ) è una delle più potenti citochine immunosoppressive e i fibroblasti associati al cancro sono una delle cellule principali per il rilascio di TGF- $\beta$ . Poiché è stato dimostrato che la melatonina sopprime il livello di espressione del TGF- $\beta$  [68], è ragionevole ipotizzare che la soppressione della secrezione di TGF- $\beta$  e l'indebolimento delle attività dei fibroblasti siano tra i meccanismi alla base degli effetti antitumorali della melatonina.

In effetti, prove crescenti hanno dimostrato che l'infiammazione e il sistema immunitario svolgono un ruolo importante nella progressione del cancro. Recentemente, il paradigma della ricerca sul cancro si è spostato dalla cellula tumorale alla TME. Numerosi studi hanno dimostrato che la melatonina potrebbe regolare le cellule immunitarie in TEM. Pertanto, la melatonina può funzionare come approccio alternativo per la terapia di regolazione immunitaria.

### 3.3. Relazione tra melatonina, metabolismo dei ROS e progressione tumorale

Lo stress ossidativo causato dai ROS è coinvolto nell'eziologia di molte malattie, come le malattie cardiovascolari e il cancro. Facilita lo sviluppo del cancro inducendo l'ossidazione del DNA e l'instabilità genomica [69]. La melatonina agisce come un potente antiossidante estinguendo i ROS attraverso i suoi metaboliti [70]. Tuttavia, un'alta concentrazione (da  $\mu\text{M}$  a  $\text{mM}$ ) di melatonina potrebbe aumentare il livello di ROS, portando a citotossicità indotta in alcune linee cellulari tumorali [71].

Per spiegare perché la melatonina, come antiossidante, può aumentare i livelli di ROS in alcuni tipi di cellule tumorali, è necessario comprendere il metabolismo del glucosio (glicolisi) e la respirazione cellulare (fosforilazione ossidativa (OXPHOS)) nella membrana mitocondriale interna. Il metabolismo delle cellule tumorali è diverso dalle cellule sane [72]. Per sostenere la rapida proliferazione, le cellule tumorali devono modificare il loro metabolismo per adattarsi agli ambienti privi di nutrienti. I cambiamenti nel metabolismo includono glicolisi, gluconeogenesi, glutaminolisi, via del pentoso fosfato (PPP), biogenesi mitocondriale e metabolismo lipidico, che contribuiscono tutti allo sviluppo, all'invasione e alla metastasi del tumore [73]. Nelle cellule normali, il piruvato generato dal processo di glicolisi viene trasportato ai mitocondri e convertito in acetil coenzima A (acetil-CoA); tuttavia, nella maggior parte delle cellule tumorali, il piruvato viene metabolizzato in lattato nel citosol. Pertanto, la generazione di acetil-CoA viene interrotta. L'effetto Warburg è il processo che impedisce al piruvato di essere trasportato ai mitocondri ma consente al glucosio di essere metabolizzato in piruvato nel citosol, facilitando la rapida proliferazione delle cellule tumorali, evitando l'apoptosi e migliorando l'invasione e la metastasi. Inoltre, come requisito assoluto nel ciclo di Krebs e fosforilazione ossidativa, la diminuzione dell'acetil-CoA comprometterà la fosforilazione ossidativa, che a sua volta riduce la generazione di ROS [74]. Questo cambiamento nelle attività metaboliche del tumore è anche benefico per la crescita delle cellule tumorali. Come abbiamo descritto sopra, AANAT è essenziale per la sintesi della melatonina. L'acetil-CoA, come donatore di acetile di AANAT, è ugualmente richiesto per la sintesi della melatonina. Pertanto, possiamo concludere che le cellule tumorali impediscono la formazione di melatonina. In conclusione, i cambiamenti nel metabolismo delle cellule tumorali le fanno

esprimere un livello più alto di ROS e un livello più basso di melatonina rispetto alle cellule normali.

Esistono due possibili meccanismi per l'aumento del livello di ROS da parte delle cellule tumorali della melatonina: (1) la melatonina stimola direttamente i ROS e (2) la melatonina rompe l'equilibrio redox cellulare diminuendo il numero di molecole che eliminano i ROS. Studi hanno dimostrato che la melatonina è in grado di modulare la formazione di ROS [75,76]. È interessante notare che la melatonina in dosi farmacologiche induce l'accumulo di ROS nelle cellule tumorali. Questa attività è più evidente nelle cellule tumorali che nelle cellule normali e può innescare l'attivazione della via pro-apoptotica [77]. Sulla base delle conoscenze di cui sopra, il secondo meccanismo può essere efficace se la melatonina riduce NADPH/NADH alterando le attività metaboliche del tumore. Tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini per confermare questo meccanismo.

Recentemente, numerosi studi hanno descritto il ruolo della melatonina sul metabolismo dei ROS e il suo potenziale antitumorale. Nei carcinomi a cellule squamose orali (OSCC), la melatonina aumenta la produzione di ROS e il danno al DNA per prevenire l'inizio e la progressione degli OSCC [78]. Funzioni simili sono state verificate nel carcinoma coloretale [79] e nel carcinoma mammario [80]. Questi due studi illustrano ulteriormente che lo stress del reticolo endoplasmatico (EnR) mediato da ROS è coinvolto nell'apoptosi causata dall'accumulo eccessivo di ROS. Soprattutto, il metabolismo distinto nelle cellule tumorali produce meno melatonina e livelli più elevati di ROS rispetto alle cellule normali. La melatonina esogena riduce i ROS nelle cellule normali ed esercita i suoi effetti antitumorali generando più ROS nelle cellule tumorali. Sono necessarie ulteriori indagini per verificare la duplice funzione della melatonina nella produzione di ROS per stabilire approcci di somministrazione standard in diverse pratiche cliniche.

#### 4. Sperimentazione clinica basata sugli effetti antitumorali della melatonina

Numerosi studi in vivo e in vitro sono stati condotti e hanno confermato gli effetti benefici della melatonina in vari tipi di cancro. Per facilitare ulteriormente l'uso della melatonina come adiuvante per la terapia antitumorale tradizionale, i ricercatori hanno studiato l'efficacia della melatonina negli studi clinici e nei pazienti (Tabella 1). Un rapporto epidemiologico ha mostrato che le persone che lavorano di notte o che hanno bassi livelli di melatonina hanno un rischio maggiore di contrarre il cancro [27]. Da allora, i ricercatori hanno studiato la relazione tra melatonina e cancro. Quasi tutti gli studi clinici hanno utilizzato la melatonina in combinazione con la chemioterapia o come terapia protettiva e hanno dimostrato che l'applicazione della melatonina ha portato a impatti positivi sul trattamento antitumorale, tra cui l'attenuazione degli effetti collaterali correlati alla chemioterapia, la riduzione dell'incidenza dei sintomi depressivi e il miglioramento la qualità del sonno dei pazienti con cancro [81].

In uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco, la melatonina è stata co-somministrata a pazienti con tumore della testa e del collo. I risultati hanno mostrato che non solo la melatonina può inibire la capacità antiossidante dei pazienti, ma riduce anche la mucosite e migliora il dolore [82,83]. Inoltre, la combinazione della melatonina con un trattamento standard a base di cisplatino ha ridotto l'anemia, un effetto collaterale comune del cisplatino [84]. Inoltre, l'effetto della melatonina nel migliorare gli effetti collaterali della chemioterapia è stato studiato anche in pazienti con cancro gastrointestinale, dimostrando che la melatonina potrebbe mantenere il peso corporeo ma non è in grado di attenuare la cachessia [85]. Uno studio clinico basato su pazienti coloretali metastatici ha rivelato che il gruppo che ha ricevuto IL-2 sottocutanea a basso dosaggio con melatonina dopo una terapia di prima linea di 5-FU ha avuto una percentuale di sopravvivenza più alta a 1 anno rispetto a quelli che hanno ricevuto solo 5-FU trattamento, che ha suggerito che l'IL-2 sottocutanea a basso dosaggio e la melatonina possono essere utilizzate come terapia di seconda linea per la terapia del cancro del colon [86].

Uno studio clinico randomizzato ha mostrato che i pazienti con carcinoma mammario metastatico che hanno ricevuto il trattamento sia con tamoxifene che con melatonina hanno avuto una risposta relativa più elevata rispetto a quelli che hanno ricevuto il solo tamoxifene [87]. Al contrario, alcuni studi clinici hanno mostrato risultati contraddittori. Le pazienti con carcinoma mammario in postmenopausa (stadi 0-III) che avevano completato il trattamento antitumorale e ricevuto un supplemento orale di melatonina (3 mg/die per 4 mesi) non hanno migliorato significativamente i livelli dei biomarcatori sierici (estradiolo, IGF1, IGF1BP-3) correlati al cancro al seno [88]. È stato anche studiato l'uso della melatonina nei pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC), dimostrando che la melatonina ha migliorato la qualità della vita ma non ha dimostrato alcun effetto protettivo contro gli effetti collaterali correlati alla chemioterapia [89]. Inoltre, la melatonina adiuvante dopo la resezione del NSCLC ha aumentato la sopravvivenza libera da malattia (DFS) a 2 anni nei pazienti con malattia in stadio avanzato, ma non ha mostrato effetti benefici sulla qualità della vita, sui sintomi o sulla funzione immunitaria [90]. Sono necessari ulteriori studi per esplorare gli effetti benefici della melatonina su questa principale causa di morte per cancro in tutto il mondo.

Sebbene una grande quantità di prove cliniche abbia confermato gli effetti antitumorali della melatonina, esistono anche alcuni risultati contrastanti. Sono necessari ulteriori studi in vivo e sperimentazioni cliniche per stabilire la sua corretta applicazione clinica nel trattamento del cancro.

#### 5. Melatonina in combinazione con altre terapie antitumorali

Nonostante i significativi progressi nello sviluppo della terapia antitumorale, la chemioterapia rimane uno dei trattamenti contro il cancro più comuni. I principali problemi della chemioterapia sono gli effetti collaterali negativi su molti organi e apparati, nonché la crescente comparsa di resistenza ai farmaci. Sono stati riportati molti benefici della melatonina applicata come adiuvante alla chemioterapia (Tabella 2), incluso il miglioramento dell'efficacia del farmaco [91,92,93] e l'attenuazione degli effetti collaterali [94]. È stato riportato che la melatonina sensibilizza le cellule tumorali alla chemioterapia promuovendo l'apoptosi [95,96] e l'autofagia nelle cellule tumorali [97, 98].

La combinazione di melatonina e radioterapia potrebbe anche fornire risultati antitumorali sinergici e alleviare la resistenza ai farmaci. Studi in vitro hanno dimostrato che l'uso della melatonina potrebbe potenziare l'effetto della radioterapia, mentre le indagini su soggetti umani sono scarse. È stato riportato che la terapia combinata di melatonina e 60 Gy di radiazioni nei pazienti con glioblastoma aumenta il tasso di sopravvivenza a 1 anno e migliora la qualità della vita [100], mentre non è stato riscontrato alcun valore clinico nei pazienti con metastasi cerebrali a cui sono stati somministrati 30 Gy di radioterapia e 20 mg di melatonina [101].

Un vaccino contro il cancro è un vaccino che tratta un cancro esistente o impedisce lo sviluppo del cancro. Le cellule tumorali insorgono regolarmente e sono distrutte dal sistema immunitario; in caso contrario, si forma un tumore [102]. Alcuni tipi di cancro sono causati da virus, come il cancro cervicale e il cancro al fegato, che potrebbero essere prevenuti rispettivamente dal vaccino contro il papillomavirus umano (HPV) e dal vaccino contro l'epatite B. Alcuni tipi di cancro sono causati da un'infezione batterica, come il cancro allo stomaco. Pertanto, il vaccino anti-*Helicobacter pylori* può prevenire lo sviluppo del cancro allo stomaco. Questi sono i vaccini tradizionali. Un altro tipo di vaccino contro il cancro separa le proteine dalle cellule tumorali e prende di mira queste proteine, che agiscono come antigeni per potenziare il sistema immunitario per uccidere le cellule tumorali. La melatonina ha il potenziale per stimolare il sistema immunitario; quindi, può avere un effetto sinergico se combinato con la vaccinazione contro il cancro. Uno studio in vivo ha dimostrato che la melatonina ha migliorato l'efficienza del vaccino antitumorale contro i tumori associati all'HPV inibendo il livello di espressione di IL-10 e VEGF nel microambiente tumorale dei topi vaccinati [103]. Un altro studio ha dimostrato che l'uso combinato di melatonina e DL-1MT (inibitore

dell'indoleammina 2,3-diossigenasi-1) ha migliorato l'immunità cellulare protettiva indotta dal vaccino nei confronti dei tumori associati a hpv16 [104].

L'immunoterapia è un trattamento contro il cancro che agisce stimolando l'attività del sistema immunitario. L'immunoterapia antitumorale ha recentemente attirato una crescente attenzione. È noto che l'inibizione di checkpoint immunitari suscita risposte antitumorali [105]. Tuttavia, il tasso di risposta è piuttosto basso [106]. La terapia di combinazione può essere una via d'uscita da questo dilemma. La melatonina ha un effetto di immunomodulazione, come descritto sopra, ed è stata a lungo studiata come coadiuvante con farmaci immunoterapici. I pazienti con tumori solidi avanzati possono beneficiare della melatonina come agente antitumorale, che aumenta l'efficacia dell'IL-2 [107]. Altri studi hanno ulteriormente verificato che la melatonina è stata in grado di migliorare l'efficienza delle immunoterapie stimolando la proliferazione dei linfociti [108] e migliorando l'immunità antitumorale [109]. Inoltre, la somministrazione di melatonina (100 mg/die) in combinazione con l'immunoterapia ha portato a una prognosi migliore tra i pazienti con vari tipi di cancro [110]. Pertanto, è promettente che la melatonina venga utilizzata in aggiunta all'immunoterapia.

## 6. Problemi con l'uso della melatonina come farmaco antitumorale

### 6.1. Proprietà chimiche della melatonina

L'emivita della melatonina sia per via orale che endovenosa è di circa 45 minuti (28-126 minuti) e la biodisponibilità orale è bassa con una significativa variabilità individuale (9-33%) [111]. La melatonina è ampiamente utilizzata clinicamente per la gestione a breve termine dei disturbi del sonno, come l'insonnia dovuta al jet lag o al lavoro a turni. In genere viene assunto per via orale a una dose compresa tra 3 mg e 10 mg al giorno; per il trattamento del cancro, il dosaggio di melatonina sarebbe molto più alto. Di conseguenza, il rischio e la gravità degli effetti collaterali possono aumentare. Pertanto, è necessario cercare una via di somministrazione alternativa per migliorare la biodisponibilità in modo da stabilire il dosaggio ottimale per il trattamento del cancro. Per utilizzare la melatonina per il trattamento del cancro, la forma del farmaco deve essere stabile con una ragionevole durata di conservazione in modo da garantire un rilascio affidabile del farmaco. Tuttavia, la melatonina ha una bassa solubilità in acqua e un'elevata permeabilità. Sono state tentate molte prove per cercare il solvente giusto per la melatonina e testarne la stabilità nel tempo. Ad esempio, 100-113 µg di melatonina sciolti in etanolo al 5% e soluzione salina isotonica al 95% sono rimasti stabili per 6 mesi, mentre 50 µg/mL di melatonina sciolti in tampone fosfato si sono degradati per 21 giorni a vari intervalli di pH [112,113]. Quando 10 mg/ml di melatonina sono stati sciolti in dimetilsolfossido (DMSO), ha mostrato stabilità per oltre 45 giorni [114].

Poiché la melatonina ha una bassa solubilità in acqua e una scarsa stabilità chimica in un solvente organico, è necessario sviluppare nuovi veicoli biocompatibili per migliorare la biodisponibilità e la solubilità della melatonina. I vettori di dimensioni nanometriche hanno suscitato grande interesse per le loro proprietà uniche, tra cui una maggiore efficacia terapeutica, una riduzione degli effetti collaterali e una migliore qualità della vita dei pazienti [115]. Le nanoparticelle sono state utilizzate per caricare la melatonina per il trattamento del cancro. Una nanoparticella  $Fe_3O_4$ , come nanocarrier magnetico per la co-consegna di doxorubicina (DOX) con melatonina, ha migliorato l'apoptosi delle cellule di osteosarcoma. La DOX combinata con la melatonina ha avuto anche un effetto antitumorale sinergico, specialmente in una forma di nano-formulazione [116]. Inoltre, i vettori lipidici nanostrutturati (NLC) caricati con melatonina potrebbero rilasciare melatonina in modo sostenibile e migliorare l'efficacia del tamoxifene nel trattamento del cancro al seno [117]. Inoltre, è stato dimostrato che le nanoparticelle di chitosano-tripolifosfato caricate con melatonina attenuano la genotossicità indotta da etoposide nelle cellule HepG2 diminuendo il ROS intracellulare [118]. Inoltre, la melatonina è stata caricata in policaprolattone di magnesio stampato in 3D per trattare l'osteosarcoma (OS), con un'elevata efficienza nell'inibire la proliferazione, l'invasione e le

metastasi delle cellule OS sia in vitro che in vivo [119]. Attualmente, le due forme più popolari di melatonina sono compresse e capsule, e il concetto di sviluppo di nanoparticelle per la somministrazione di melatonina è ancora nelle sue fasi iniziali, con studi focalizzati sulla somministrazione in vitro in diverse condizioni umane [120].

## 6.2. La misurazione della melatonina

Sono stati segnalati numerosi ruoli benefici della melatonina nella modulazione dei ritmi circadiani e delle malattie correlate. Quindi, i livelli di melatonina in varie condizioni cliniche e fisiologiche sono valori indice importanti. Tuttavia, come misurare con precisione la concentrazione di melatonina rimane una grande sfida.

Il problema fondamentale è quale campione raccogliere: plasma, saliva o urina. Gli studi di endocrinologia normalmente prelevano campioni di sangue per testare i livelli ormonali e per valutare la funzione delle ghiandole interessate. Poiché la melatonina viene secreta direttamente nel flusso sanguigno, la misurazione della melatonina nel plasma sanguigno è il modo più diretto. I livelli di melatonina nel plasma dovrebbero essere inferiori a 5 pg/ml durante il giorno [121]. Pertanto, i kit per il dosaggio della melatonina dovrebbero avere un'elevata sensibilità. Inoltre, la melatonina potrebbe essere trovata anche nella saliva durante la notte. Gli studi hanno successivamente dimostrato la correlazione tra i livelli di melatonina nel plasma e nella saliva [122], nonostante l'uso della melatonina salivare per speculare sulla concentrazione sierica una volta fosse ritenuto non convincente [123]. Inoltre, testare il livello di 6-solfatossimelatonina nelle urine è un metodo accurato per riflettere la melatonina pineale [124]. Tuttavia, i kit commerciali per la misurazione della 6-solfatossimelatonina urinaria potrebbero raramente raggiungere gli standard fissati dai test di spettrometria di massa.

Un altro fattore importante per ottenere una misurazione accurata della melatonina è il tempo di raccolta del campione. È essenziale raccogliere più campioni in momenti diversi, soprattutto quando si esplora l'inizio della secrezione di melatonina o l'uscita totale della ghiandola pineale. Il livello di melatonina nel plasma sanguigno venoso rimane basso durante il giorno, aumenta bruscamente di notte, raggiungendo il massimo intorno alle 3:00 del mattino e poi scende a livelli bassi intorno alle 7:00 alle 8:00 nella maggior parte delle persone. La maggior parte degli animali condivide anche un fenomeno simile per cui il livello di melatonina è basso durante il giorno e alto di notte.

È essenziale selezionare un kit di dosaggio appropriato per il test. Dagli anni '70 sono stati sviluppati numerosi kit di analisi per misurare i livelli di melatonina nel sangue e nella saliva. Si suggerisce che i dosaggi commerciali dovrebbero essere abbastanza sensibili da rilevare basse concentrazioni (<2 pg/mL) [125]. Sfortunatamente, pochissimi kit disponibili sul mercato potrebbero raggiungere una sensibilità così elevata, portando così a misurazioni imprecise. In breve, la misurazione del livello di melatonina è spesso richiesta negli studi sulla melatonina. I ricercatori devono prestare attenzione a tre aspetti pertinenti nel disegno dello studio: quale campione raccogliere, tempo di raccolta del campione e selezione dei kit di analisi. Trascurare questi problemi porta sempre a enormi variazioni tra diversi studi, dati imprecisi e conclusioni errate. Ciò può fornire una spiegazione ai risultati contrastanti in letteratura, che ostacolano la determinazione del livello terapeutico di melatonina nel trattamento del cancro.

## 6.3. Il profilo di sicurezza e il dosaggio della melatonina

La melatonina è ben riconosciuta come un farmaco privo di tossicità significativa sia a concentrazioni fisiologiche che farmacologiche. Tuttavia, non possiamo trarre questa conclusione senza chiarire la dose e la durata del trattamento con melatonina. I ricercatori devono ancora determinare il dosaggio ottimale di melatonina per la terapia adiuvante del cancro o la prevenzione del cancro. Una revisione sistematica ha confrontato 50 studi con somministrazione di melatonina compresa tra 0,3 mg e 1600 mg al giorno per 4 settimane a 3,5 anni ( $15 \pm$  mesi, in media). Ventisei

studi non hanno riportato eventi avversi. Gli eventi avversi riportati erano per lo più correlati a disfunzioni psicomotorie e neurocognitive, affaticamento e sonnolenza eccessiva [126], che potevano essere evitati assumendo melatonina durante la notte e utilizzando il dosaggio corretto con somministrazione a breve termine. Tuttavia, quando applicato per il trattamento del cancro, sono necessarie dosi relativamente elevate sia in vitro (0,1-10 mM) che in vivo (5 mg-200 mg/die) e una durata a lungo termine, che possono causare gravi effetti collaterali. Inoltre, i malati di cancro hanno una condizione patologica e stanno ricevendo altri trattamenti antitumorali in corso. La fragile condizione del corpo può esacerbare gli effetti collaterali.

In sintesi, è fondamentale identificare i possibili effetti collaterali della melatonina quando viene utilizzata nel trattamento del cancro. In letteratura, la maggior parte degli studi ha riportato una bassa incidenza di eventi avversi ma la melatonina è stata somministrata a basso dosaggio e per breve durata. In considerazione dello stato patologico e del possibile trattamento concomitante nei pazienti oncologici, sono necessarie ulteriori indagini per verificare il profilo di sicurezza e il dosaggio della melatonina nel trattamento del cancro.

#### 6.4. Come singolo farmaco antitumorale o farmaco antitumorale adiuvante?

Le prove attuali suggeriscono che la melatonina venga utilizzata come terapia adiuvante o protettiva. Come terapia adiuvante può aumentare l'efficacia del trattamento; come terapia protettiva, può migliorare gli effetti collaterali avversi della chemio e della radioterapia durante il trattamento del cancro [127,128].

Sebbene la melatonina abbia un'elevata efficacia e una bassa tossicità nel trattamento del cancro, pochissime aziende vogliono sviluppare questo ormone, di per sé, poiché è una molecola naturale e non brevettabile. Inoltre, nonostante numerosi studi che hanno dimostrato gli effetti antitumorali della melatonina, alcuni studi hanno anche dimostrato che l'uso della melatonina da sola esercitava un effetto minore o addirittura nullo sulla riduzione dei marcatori del cancro [88]. Alcuni studi epidemiologici che collegano i livelli circadiani di melatonina del corpo all'incidenza del cancro hanno concluso associazioni significative o assenti [129,130,131]. La melatonina esercitava effetti anti-proliferativi e anti-migrazione su una linea cellulare di melanoma, ma effetti simili non potevano essere dimostrati in vivo [132]. Questi risultati incoerenti si sono verificati anche in pazienti sottoposti a chemioterapia. Uno studio prospettico di coorte su pazienti con carcinoma mammario sottoposte a chemioterapia ha mostrato che la somministrazione ripetuta di chemioterapia ha smorzato la produzione notturna di melatonina, che ha causato disturbi del sonno e interruzione del ritmo dell'attività sonno-veglia, suggerendo che l'integrazione di melatonina può migliorare la qualità della vita [133]. Tuttavia, questo potenziale beneficio della melatonina non è stato dimostrato nei pazienti con melanoma trattati con dacarbazina [134].

Tutto sommato, gli studi esistenti supportano l'uso della melatonina come farmaco antitumorale adiuvante o protettivo perché hanno utilizzato un dosaggio relativamente basso e uniforme di melatonina.

Tuttavia, nel valutare l'efficacia antitumorale della melatonina da sola, i risultati degli studi di base e clinici erano incoerenti a causa dei vari dosaggi e tempi di somministrazione. Sono necessarie ulteriori indagini per sviluppare un dosaggio e un tempo di somministrazione adeguati e uniformi per un trattamento preciso.

#### 7. Conclusioni e prospettive

L'eradicazione del cancro è stata a lungo un obiettivo per scienziati e medici. La terapia antitumorale ideale consiste nell'utilizzare farmaci già testati e utilizzati in ambito clinico con un buon profilo di sicurezza e che siano efficaci nel trattamento del cancro. La melatonina, un ormone pleiotropico utilizzato nel trattamento dei disturbi del sonno, ha una tossicità minima e potrebbe mitigare il cancro nelle fasi di inizio, promozione e progressione. Tuttavia, ci sono quattro problemi

principali quando si utilizza la melatonina come farmaco antitumorale: (1) una bassa biocompatibilità della melatonina, (2) una misurazione non uniforme del livello di melatonina, che porta a un livello terapeutico incerto, (3) un dosaggio incerto regime ed effetti collaterali sui malati di cancro e (4) un approccio di somministrazione incerto. Per facilitare l'applicazione clinica della melatonina, è necessario adottare alcune misure. In primo luogo, dovrebbero essere sviluppate nuove forme di farmaci o sistemi di trasporto di farmaci per migliorare la biodisponibilità della melatonina. In secondo luogo, è necessario chiarire i criteri relativi al tempo di raccolta del campione e alle fonti del campione. In terzo luogo, sono necessari ulteriori studi per chiarire il dosaggio ottimale e la sicurezza a lungo termine della melatonina nei malati di cancro. Infine, la comprensione dei meccanismi molecolari e gli studi clinici pertinenti sono giustificati per fornire ulteriori prove dell'uso clinico della melatonina come farmaco antitumorale. Considerando i molteplici benefici della melatonina sulla salute umana, speriamo che questa recensione contribuisca a fornire diverse prospettive per arricchire la nostra comprensione delle potenzialità e dei limiti della melatonina nella terapia antitumorale. Inoltre, questi risultati possono facilitare lo sviluppo della melatonina come potenziale alternativa per il trattamento del cancro, da sola o in combinazione con altri farmaci antitumorali.